



Effect of sensory deprivation and Locus Coeruleus (LC) electrical stimulation on the response properties of layer IV barrel cortex neurons in male rats

Ali siahposht khachaki¹, Vahid sheibani^{*}, Mohammad reza afarinesh khaki¹,
hamid sheikhkanloui Milan¹, Ali shamsizadeh²

1. Department of Physiology, Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

2. Department of Physiology, Rafsanjan University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Received: 15 Aug 2009

Accepted: 4 Jan 2010

Abstract

Introduction: Barrel cortex of rodents is responsible for sensory information processing from muzzle whiskers. Locus coeruleus (LC) as the main source of norepinephrine (NE) in the cortex, is effective on the sensory information processing.

Methods: Rats were divided to 2 groups. One group underwent sensory deprivation (P4) and the other group served as control and did not undergo sensory deprivation. Response properties of the neurons were evaluated by extracellular single unit recordings following a controlled mechanical deflection of the principal whisker (spared whisker), or before the simultaneous deflection of principal and adjacent whiskers (trimmed whisker) were assessed. In the P4 group, all whiskers on the left muzzle, except D2, were trimmed every other day for two months. In both groups, LC was electrically stimulated 0, 50, 100, 200, 400 and 800 ms before controlled principal whisker deflection. Response magnitude, latency and CTR index (lateral inhibition index) were assessed.

Results: In the P4 group, deflection of the principal whisker without LC electrical stimulation, increased the response magnitude and CTR index, but decreased the response latency compared to the control group. The magnitude of the response of neurons to the principal whisker deflection was significantly different between P4 and control groups, in following of principal whisker deflection in times of LC stimulation showed significant difference only in 50 ms subgroup. In both groups, pro-stimulation differences in CTR index and response latency remained unchanged after LC stimulation.

Conclusion: Our data showed that electrical stimulation of LC following sensory deprivation modulates neuronal response properties and changes their response pattern.

Key words: Barrel cortex, Sensory deprivation, Locus coeruleus nucleus, Rodents.

*Corresponding author e-mail: vsheibani2@yahoo.com
Available online @:www.phypha.ir/ppj

اثر محرومیت حسی و تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس بر خصوصیات پاسخی نورون های لایه IV قشر بارل در موش صحرایی نر

علی سیاه پشت خاچی^۱، وحید شببانی^{۱*}، محمدرضا آفرینش خاکی^۱، حمید شیخکانلوی میلان^۱، علی شمسی زاده^۲
۱. گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۲. گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان،

پذیرش: ۱۴ دی ۸۸

دریافت: ۲۴ مرداد ۸۸

چکیده

مقدمه: قشر بارل در جوندگان مسئول دریافت و پردازش اطلاعات حسی از ویسکرهای پوزه حیوان می باشد. هسته لوکوس سرولئوس (LC) به عنوان منبع تولیدکننده نوراپی نفرین قشر مغز در پردازش اطلاعات حس تماس موثر می باشد. در این مطالعه اثر تحریک الکتریکی LC بر خصوصیات پاسخی نورونهای لایه ۴ قشر بارل در موش صحرایی نر محروم از حس بررسی شد.

روش ها: ویژگی های پاسخی نورونها در گروه بدون محرومیت حسی (کنترل) و در گروه محروم از حس (P4) با ثبت تک واحدی خارج سلولی بدنبال خم کردن مکانیکی کنترل شده ویسکر اصلی (باقیمانده) یا قبل از جابجایی توام ویسکرهای اصلی و کناری (حذف شده) مورد ارزیابی قرار گرفت. در هر دو گروه LC در زمانهای ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، قبل از جابجایی کنترل شده ویسکر اصلی تحریک الکتریکی می شد و اثر آن بر روی زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها، بزرگی پاسخ نورونها و نیز شاخص CTR (به عنوان شاخصی از مهار جانبی در قشر) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد جابجایی مکانیکی ویسکر اصلی بدون تحریک الکتریکی LC در گروه P4 نسبت به گروه کنترل سبب کاهش زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها، افزایش بزرگی پاسخ نورونها و افزایش میزان شاخص CTR شده است. مقایسه بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی ویسکر اصلی بین گروه P4 با گروه کنترل در زمانهای تحریک الکتریکی هسته LC نشان داد که فقط در زمان ۵۰ میلی ثانیه اختلاف همانند زمان قبل از تحریک LC به سطح معنی داری رسیده است. همچنین در دو گروه اختلافی که از قبل از تحریک LC در شاخص CTR و زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها وجود داشت در بعد از تحریک هسته LC نیز مشاهده گردید.

نتیجه گیری: یافته های ما نشان می دهد که تحریک الکتریکی LC به دنبال محرومیت حسی سبب تعدیل خصوصیات پاسخی نورونها و تغییر در الگوی پاسخ آنها می شود.

واژه های کلیدی: قشر بارل، محرومیت حسی، لوکوس سرولئوس، موش صحرایی

مقدمه

حیوان دارد که یک واحد آناتومیک مجزایی به نام بارل کورتکس (Barrel Cortex) را نمایان می سازد و توصیف سازمان دهی عملکردی دقیق و پردازش اطلاعات حسی مخابره شده از ویسکرها را امکان پذیر می سازد [۴، ۱۸، ۲۶، ۲۷]. ویسکر اندام حسی حیاتی در جوندگان بوده و نقش اساسی در تشخیص اشیاء، درک عمق، شنا، کسب غذا و شکار، رفتار جنسی و خشم دارد [۲۲، ۲۶]. یکی از مهمترین ویژگی های قشر بارل

کورتکس حسی-پیکری در موش صحرایی وسایر جوندگان یک نقشه سوماتوتروپیک دقیق به ازای هر ویسکر روی صورت

vsheibani2@yahoo.co
www.phypha.ir/pp

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

فعالیت نورونهای لایه ۵ قشر بارل را تغییر دهد [۱۳]. همچنین حذف نورایی نفرین مغز به دنبال محرومیت حسی ویژگی پاسخهای نورونهای قشر بارل را تغییر میدهد [۱۷]. مطالعات نشان دادند که تزریق ایونتوفوریز نورایی نفرین [NE] مشابه تحریک LC دارای دو اثر متضاد تسهیلی و مهارری روی نورونهای قشرحسی پیکری است [۲۱،۲۲].

در مطالعه ای دیگر موشهای های مورد آزمایش تحت محرومیت حسی (محرومیت حسی وابسته به تجربه) قرار گرفتند و تغییرات اندازه بارل ها توسط مصرف ۲-دی اکسی گلوکز (-2 DG) اندازه گیری شد. در حالت عادی پس از ایجاد محرومیت حسی منطقه ای از قشر بارل مربوطه که مصرف گلوکز را نشان می داد، گسترش پیدا می کرد، در حالی که پس از تخریب LC این افزایش معنی دار نبوده است [۱۱].

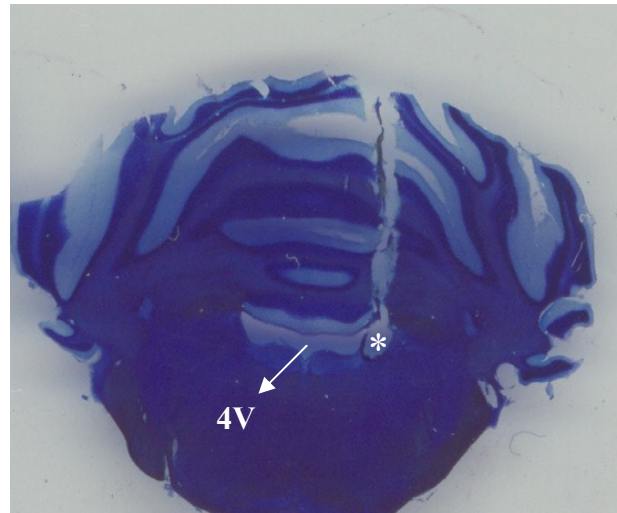
مطالعه ای دیگر نشان داد که تحریک الکتریکی فازیک هسته LC، باعث کاهش اندازه پاسخ نورون های لایه IV قشر بارل در پاسخ به خم کردن ویسکر اصلی در موشهای معمولی (بدون محرومیت حسی) می شود [۲].

حال با توجه به نقش مدولاتوری نورایی نفرین در پردازش اطلاعات حسی، در این پژوهش، اثر تحریک الکتریکی فازیک هسته LC به عنوان تنها منبع نورایی نفرین قشر مغز بر ویژگی های پاسخ نورونهای لایه ۴ قشر بارل بدنال محرومیت حسی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

موش ها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت 21 ± 1 درجه سانتی گراد نگهداری می شدند و محدودیتی از نظر دسترسی به آب و غذا نداشتند. موشها به صورت تصادفی به ۲ گروه تقسیم شده بودند:

الف) گروه P4: در این گروه حیوانات در روز P4 (چهار روز بعد از تولد) به مدت ۶۰ روز، بصورت یکروز در میان تمام ویسکرهای پوزه سمت چپ حیوان بجز ویسکر D2 با استفاده از یک موجین حذف می شد و بعد از شصت روزگی بمدت ۱۰-۷ روز به تمام ویسکر ها اجازه رشد مجدد داده می شد و سرانجام هر دو گروه آزمایش در سن ۹۰-۷۰ روزگی (P70-P90) تحت آزمایشات ثبت خارج سلولی تک واحدی از انورونهای لایه ۴



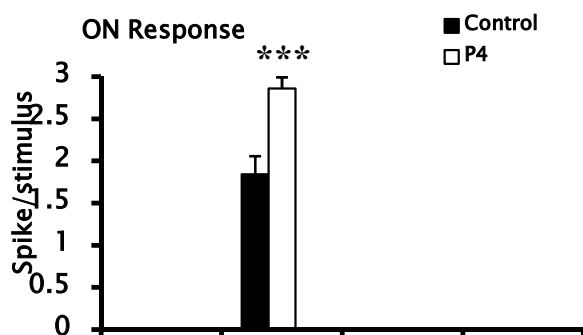
شکل ۱- ستاره محل الکترود تحریکی جهت تحریک الکتریکی هسته LC را نشان می دهد. (رنگ آمیزی نیسل) 4V: بطن چهارم.

پلاستیسیته وابسته به تجربه^۱ نام دارد که بمعنی تغییر پاسخهای ثبت شده از کورتکس به دنبال تغییر محیط و تغییر اطلاعات حسی (تغییر ورودی کورتکس) می باشد [۳،۴]. به دنبال برداشتن یا حذف ویسکرها و ایجاد محرومیت حسی^۲ در نتیجه حذف قسمتی از اطلاعات حسی ورودی، الگوی پاسخ بارل ها دچار تغییر خواهد شد [۵،۶]. القاء شکل پذیری دارای دوره بحرانی^۳ می باشد.

در قشر بارل دوره بحرانی برای القاء شکل پذیری در لایه ۴ تا روز چهارم پس از تولد است [۶] و بر اساس بعضی مطالعات تا روز هفتم پس از تولد هم گزارش شده است [۳،۵]. سیستم های نورومدولاتوری از جمله سیستم نورایی نفرین نقش تعدیلی در پردازش اطلاعات حسی در کورتکس دارند و در ایجاد پدیده شکل پذیری وابسته به تجربه نقش اساسی دارد [۷،۱۰،۱۳].

هسته لوکوس سرولئوس [LC] به عنوان اصلی ترین منبع تولید نورایی نفرین مغز است که با مناطق مختلف سیستم عصبی از جمله نئوکورتکس، هیپوکامپ، تالاموس ارتباط دارد [۲۰،۲۲]. نورایی نفرین در وضعیت رفتاری، حس توجه، سیکل خواب و بیداری و اعمال شناختی نقش دارد [۱۴،۱۵]. تحریک الکتریکی فازیک هسته LC به تنهایی (بدون محرومیت حسی) می تواند

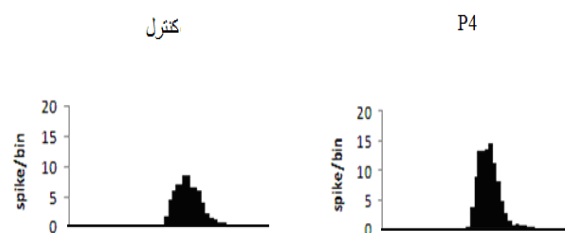
1. Experience-Dependent Plasticity
2. Sensory deprivation
3. Critical Period



شکل ۳- اثر محرومیت حسی بر روی بزرگی پاسخ نورونهای لایه ۴ قشر بارل مغز در پاسخ به جابجایی ویسکر اصلی: اختلاف معنی دار در گروه P4 نسبت به گروه کنترل (*** $P < 0.001$). گروهی که ویسکر هایشان حذف نشده است. P4: گروهی که در آنها حذف ویسکر ها از روز چهارم پس از تولد انجام شد. تمام نورونهای ثبت شده در لایه ۴ قشر شبکه های D2 قرار داشتند.

ارتفاع ۸۰۰-۴۵۰ میکرومتر) قرار می گرفت. اسپایکهای برداشته شده توسط میکرو الکتروود پس از ده هزار بار تقویت و پالایش (۱۰۰۰-۳۰۰ هرتز) توسط آمپلی فایر (DAM80 ساخت شرکت WPI آمریکا) به ورودی دستگاه موج بیز (Window-Discriminator) منتقل می شد و همزمان از طریق یک رابط به دستگاه مدار تأخیری (Delay Line) با زمان تأخیر ۱۰ میلی ثانیه، به اسیلوسکوپ حافظه دار منتقل می شد. معمولاً اسپایکهای نورونی که پس از مدت زمان حدود ۱۵-۱۰ دقیقه پایدار باشند و نسبت سیگنال به نویز آنها ۳ به یک باشد، توسط دستگاه موج بیز با تعریف یک پنجره ولتاژی از بقیه نورونها جدا می شد. دستگاه موج بیز به ازاء هر اسپایکی که در محدوده بین پنجره ولتاژی قرار بگیرد یک پالس مربعی تولید می کند دستگاه موج بیز طوری تنظیم شده بود که می توانست با فرکانس ۱۰ کیلو هرتز به شمارش اسپایک پردازد. از طرف دیگر همین پالس اسیلوسکوپ حافظه دار را فعال می کرد بدین ترتیب دستگاه مدار تأخیری و اسیلوسکوپ حافظه دار امکان مشاهده شکل اسپایک ایزوله شده را فراهم می ساخت. با استفاده از نرم افزار مربوطه پاسخ نورونها به خم شدن مکانیکی کنترل شده ویسکرها، بصورت هیستوگرامهای زمانی بعد از تحریک^۲ ثبت می گردید [۱۷، ۱۶، ۱۳].

• جابجایی کنترل شده ویسکر ها



شکل ۲- مقایسه هیستوگرام تجمعی پاسخ نورون ها به تحریک ویسکر اصلی و کناری بین گروه کنترل و گروه P4. هیستوگرام تجمعی نشان دهنده پاسخ نورون ها به ۴۰ بار تحریک ویسکر اصلی است. محور افقی نشان دهنده زمان برحسب میلی ثانیه است و زمان صفر، نشانگر لحظه شروع تحریک ویسکر است. محور عمودی در هر دو نمودار مشابه و بر حسب Spike/Bin است.

قشر بارل همراه با تحریک الکتریکی فاز یک هسته LC قرار می گرفتند.

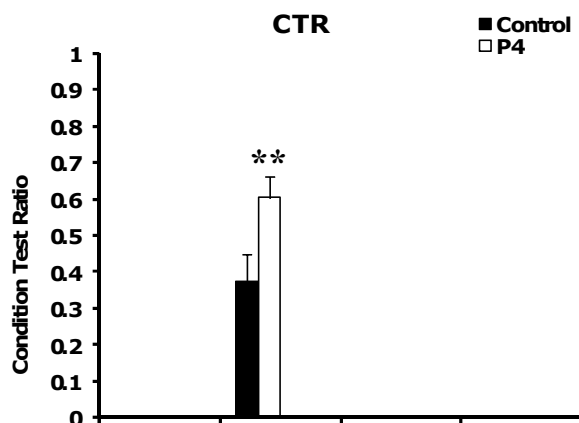
ب) گروه کنترل (بدون محرومیت حسی): موشهای دست نخورده (بدون حذف ویسکر) که بعد از تولد تحت محرومیت حسی قرار نمی گرفتند و شرایط دیگرشان مثل گروه قبلی بود [۱۶، ۱۷].

• ثبت تک واحدی خارج سلولی

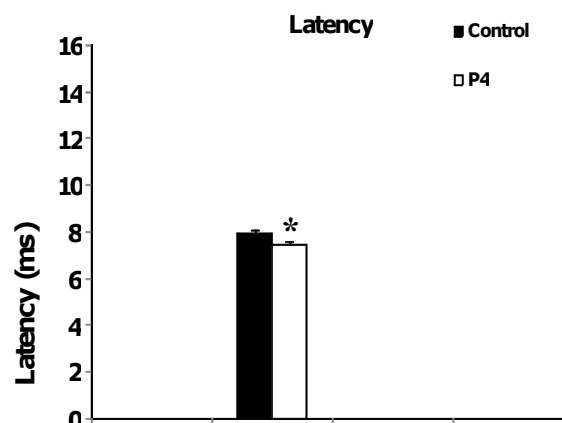
جهت انجام ثبت خارج سلولی، حیوانات را ابتدا با یورتان^۱ با دوز ۱/۲ گرم در هر کیلو گرم بیهوش کرده سپس حیوانات را داخل دستگاه استریوتاکس قرار داده و درجه حرارت بدنشان توسط یک پتوی حرارتی بین $[37 \pm 0.1]$ درجه سانتی گراد، کنترل می شد. ناحیه مجسمه سمت راست به ابعاد ۱ تا ۴ میلی متر عقب تر از برگما و همچنین ۴ تا ۷ میلی متر در جانب خط وسط برداشته می شد تا سخت شامه کاملاً در معرض دید قرار بگیرد. با ارزیابی رفلکسهای دم و پای عقب سطح هوشیاری مورد ارزیابی قرار می گرفت و در صورت سبک شدن بیهوشی، ده درصد دوز اولیه ماده بیهوشی تزریق می شد. برای ثبت خارج سلولی از یک میکروالکتروود فلزی استفاده می شد. محل قرارگیری میکروالکتروود با استفاده از نقشه سوماتوتوپیکی ویسکرها و بوسیله یک پروپ و گوش کردن به صدای فعالیت نورون ها، ویسکر D2 مشخص می شد. سپس با استفاده از محلول گرم آگار ۳ درصد که در سالیین حل شده بود سطح قشر پوشیده می شد. پس از آن میکروالکتروود توسط یک میکرومانیپولاتور در لایه IV قشر حسی مربوط به ویسکر D2 (

2. Post Stimulus Time Histogram(PSTH)

1. Urethane



شکل ۵- اختلاف معنی دار در میزان CTR بین گروه کنترل با گروه P4 (نمایش داده ها) به صورت میانگین \pm انحراف معیار است (** $P=0.01$). کنترل گروهی که ویسکر هایشان حذف نشده است، P4: حیواناتی که ویسکر های آنان از روز چهارم بعد از تولد حذف شده بود. تمام نورونهای ثبت شده در لایه ۴ قشر شبکه های D2 قرار داشتند.



شکل ۴- اثر محرومیت حسی بر زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها در پاسخ به جابجایی ویسکر اصلی: * (ستاره) اختلاف معنی دار در زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها بین گروه کنترل با گروه P4 در پاسخ به جابجایی ویسکر اصلی ($P=0.04$). کنترل: گروهی که ویسکر هایشان حذف نشده است. P4: حیواناتی که ویسکر های آنان از روز چهارم بعد از تولد حذف شده بود. تمام نورونهای ثبت شده در لایه ۴ قشر شبکه های D2 قرار داشتند

در هسته LC قرار میگرفت. این الکترو تحریکی از دو الکتروود نازک درهم تابیده از جنس فولاد زنگ نزن که با لایه ای از تفلون پوشانده شده، تشکیل می شد (۱/۲۵ میلی متر، WPI). هسته LC بوسیله یک دستگاه استیمولاتور (WPI، A۳۶۵) با ۵ پالس ۰/۲ میلی ثانیه ای با شدت ۳۰۰-۱۰۰ میکروآمپر/فراکانس ۱۰۰ هرتز تحریک می شد. بعد از اتمام آزمایشات با جریان مستقیم DC (۳۰ میکرو آمپر، ۲۰ ثانیه) هسته LC لیژن داده می شد. سپس با تهیه برشهایی به ضخامت ۸۰ میکرون و با استفاده رنگ آمیزی نیسل محل قرارگیری الکتروود تحریکی در هسته LC مورد تایید قرار می گرفت [۲۵، ۱۳]. شکل [۱].

با استفاده از نرم افزار مربوطه بزرگی پاسخ به جابجایی ویسکر ها به وسیله شمارش تعداد اسپایکها به ازاء هر تحریک (Spike/Stimulus) ۲۵ میلی ثانیه بعد از شروع جابجایی ویسکرها مورد محاسبه قرار میگرفت. برای محاسبه زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها به جابجایی ویسکر مربوطه، از هیستوگرام تأخیری (Latency histogram) استفاده می شد بدین ترتیب که زمانی بعد از تحریک (اندازه bin برابر با یک میلی ثانیه) که بزرگی پاسخ از میانگین فعالیت خودبخودی به اندازه دو انحراف معیار (standard deviation) بزرگتر بود، به عنوان زمان شروع پاسخ در نظر گرفته می شد. برای محاسبه اثر تسهیلی یا مهارتی ویسکر های اصلی و کناری بر یکدیگر از Condition Test Ratio شاخص (CTR) استفاده می شد که به صورت زیر

برای خم نمودن مکانیکی کنترل شده ویسکر ها از دو بلندگو استفاده می شد. یک لوله شیشه ای نازک با قطر داخلی ۰/۶۹ میلی متر، به مرکز هر بلندگو وصل شده و با اعمال ولتاژ مناسب به بلندگوها جابجایی با مشخصات ذیل در آنها ایجاد می شد: زمان بالا رفتن ویسکر ۵ میلی ثانیه، مدت زمان خم شدن ۲۰۰ میلی ثانیه، میزان خم شدن ۵۰۰ میکرومتر، دفعات خم شدن ۴۰ مرتبه با فرکانس ۰/۵ هرتز. ویسکر ها در هنگام ثبت الکتروفیزیولوژی به فاصله ۱۰ میلی متر از سطح صورت کوتاه و نوک آنها داخل لوله ای شیشه ای قرار می گرفت [۲۱]. پس از اتمام آزمایش برای اطمینان از محل قرار گیری الکتروودها در قشر بارل D2 به وسیله جریان الکتریکی (۲۰ میکرو آمپر ۱۵ ثانیه) لیژن داده می شد سپس (پس از آنکه ثبت پارامترهای فیزیولوژیک انجام شد) با روش رنگ آمیزی سیتوکروم اکسیداز محل قرار گیری الکتروود در لایه ۴ قشر بارل D2 تایید میگردد در صورت نبود الکتروود در لایه مورد نظر، داده ها از بخش آنالیز آماری حذف می شدند [۱۶].

برای تحریک هسته LC، الکتروود تحریکی در سمت راست خط وسط، روی جمجمه سوراخی با قطر ۱-۲ میلی متر در بالای هسته LC نسبت به صفحه اینتراورال با زاویه ۱۸ درجه و از عقب

1. Lesion

محاسبه می گردید [۱۳، ۱۶، ۱۷].

PC(5-25ms)

$$CTR = \frac{PC}{(25-45ms)Aa + (5-25ms)Pa}$$

PC = بزرگی پاسخ ویسکر اصلی در حالت جفتی در ۲۵-۵ میلی ثانیه بعد از جابجایی

Pa = بزرگی پاسخ ویسکر اصلی به تنهایی در ۲۵-۵ میلی ثانیه بعد از جابجایی

Aa = بزرگی پاسخ ویسکر کناری به تنهایی در ۲۵-۴۵ میلی ثانیه بعد از جابجایی

در صورتی که مقدار CTR از یک کمتر باشد، بعنوان اثر مهارى و اگر از یک بیشتر باشد، بعنوان تسهیل در پاسخ نورون در نظر گرفته می شد. از آزمونهای واریانس تکرار شونده و t-test و Paired t-test بر حسب مفروضات در گروههای آزمایش استفاده شد. از نرم افزار SPSS11/5 جهت بررسی آماری استفاده گردید. $P < 0.05$ بعنوان سطح معنی داری در نظر گرفته می شد [۱۳، ۱۶، ۱۷].

یافته ها

به دنبال ایجاد محرومیت حسی با استفاده از جابجایی کنترل شده ویسکرها، اثر تحریک الکتریکی هسته LC بر روی خصوصیات پاسخ نورونهای لایه ۴ قشر بارل مورد ارزیابی قرار گرفتند.

۱- اثر محرومیت حسی بر بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی کنترل شده ویسکر اصلی

در شکل ۲ بزرگی پاسخ نورونها در گروه P4 در مقایسه با گروه کنترل بصورت هیستوگرام تجمعی اطراف تحریک (Population Peri-Stimulus Time Histogram) نشان داده شده است. نمودار ۳ نشان می دهد که در گروه P4 در مقایسه با گروه کنترل حذف ویسکر ها سبب افزایش قابل توجه در بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی ویسکر اصلی (ویسکر باقی مانده) (t-test, $P = 0.001$) شده است.

۲- اثر محرومیت حسی بر زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها در پاسخ به جابجایی کنترل شده ویسکر اصلی

شکل ۴ نشان می دهد که محرومیت حسی در گروه P4 در مقایسه با گروه کنترل سبب کاهش معنی دار در زمان تاخیر شروع پاسخ (Latency) به جابجایی کنترل شده ویسکر اصلی شده است (t-test, $P = 0.048$).

۳- اثر محرومیت حسی بر CTR نورونهای لایه ۴ قشر بارل به جابجایی توام سبیل اصلی

شکل ۵ نشان می دهد که محرومیت حسی سبب افزایش معنی دار در میزان CTR در گروه P4 نسبت به گروه کنترل شده است. (t-test, $P = 0.01$)

۴- اثر تحریک الکتریکی هسته LC متعاقب محرومیت حسی بر بزرگی پاسخ نورونهای لایه ۴ قشر بارل به جابجایی کنترل شده ویسکر اصلی

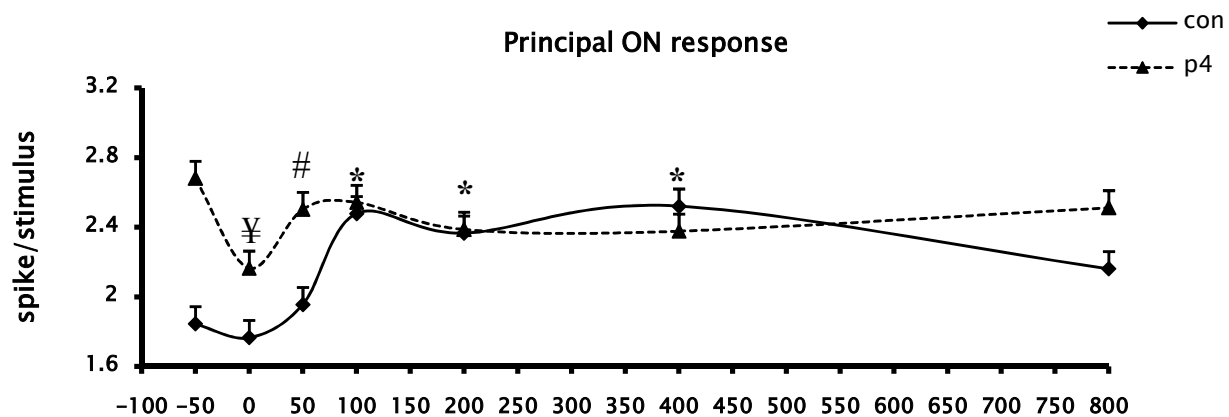
همانطور که در شکل ۶ نشان داده شده است، مقایسه داخل گروهی بزرگی پاسخ نورونها در گروه کنترل و P4 به جابجایی ویسکر اصلی با استفاده از آنالیز آماری repeated measure ANOVA(RMA) همراه با آزمون paired t-test نشان می دهد که در گروه کنترل به دنبال تحریک الکتریکی هسته LC بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی ویسکر اصلی از زمان ۵۰ میلی ثانیه به بعد شروع به افزایش کرده که این افزایش در زمانهای ۲۰۰، ۱۰۰، ۴۰۰ میلی ثانیه بعد از تحریک LC به سطح معنی داری رسیده است.

[F(6,84)=3.016, $P = 0.03$ Followed with paired t-test, $P < 0.05$]

در گروه P4 بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی ویسکر اصلی دارای روند کاهشی بوده که این کاهش فقط در زمان صفر میلی ثانیه به سطح معنی داری رسیده است.

[F(4.493,80.850)=2.649, $P = 0.018$ Followed with t-test, $P < 0.05$].

مقایسه بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی ویسکر اصلی بین گروه P4 با گروه کنترل در هر زمان ثابت از تحریک الکتریکی هسته LC نشان داد که فقط در زمان ۵۰ میلی ثانیه اختلاف همانند زمان قبل از تحریک LC به سطح معنی داری رسیده است. در حالی که در سایر زمانها (۲۰۰، ۱۰۰، ۴۰۰) میلی ثانیه، تحریک الکتریکی LC باعث شده است که اختلاف بزرگی پاسخ به جابجایی ویسکر اصلی به مقدار حداقل خودش رسیده و



Time between whisker deflection and LC stimulation (ms)

شکل ۶- مقایسه داخل گروهی و بین گروهی اثر تحریک الکتریکی هسته LC متعاقب محرومیت حسی بر بزرگی پاسخ نورونهای لایه ۴ قشر بارل به جابجایی ویسکر اصلی در گروههای کنترل و P4: (#) اختلاف معنی دار در داخل گروه کنترل در پاسخ به جابجایی ویسکر اصلی در زمانی ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میلی ثانیه. (#) اختلاف معنی دار در داخل گروه P4 در بازه زمانی صفر میلی ثانیه در پاسخ به جابجایی ویسکر اصلی. (‡) اختلاف معنی دار در گروه P4 نسبت به کنترل در پاسخ به جابجایی ویسکر اصلی در زمان ۵۰ میلی ثانیه. ($P < 0.05$). کنترل: گروهی که ویسکر هایشان حذف نشده است. P4: حیواناتی که ویسکر های آنان از روز چهارم بعد از تولد حذف شده بود.

اصلی بین گروه P4 با گروه کنترل در هر زمان ثابت از تحریک الکتریکی هسته LC نشان داد که در تمامی زمانهای تحریک LC (۸۰۰-۰) میلی ثانیه اختلاف معنی دار همانند زمان قبل از تحریک LC مشاهده می گردد و تغییری در روند کلی آن مشاهده نشده است و اختلافی که از قبل وجود داشته است همچنان وجود دارد (t -test, $P < 0.05$).

۶- اثر تحریک الکتریکی هسته LC متعاقب محرومیت حسی بر میزان CTR نورونهای لایه ۴ قشر بارل به جابجایی کنترل شده توام ویسکرها

همانطور که در شکل ۸ نشان داده شده است، مقایسه داخل گروهی CTR در گروه کنترل و P4 به جابجایی توام ویسکرها (اصلی و کناری) با استفاده از آنالیز آماری repeated measure ANOVA(RMA) همراه با آزمون paired t-test نشان می دهد که در گروه کنترل تحریک الکتریکی هسته LC سبب اختلاف معنی داری نسبت به حالت بدون تحریک LC نشده است

[F (3.315, 134.989) = 1.595 $P = 0.14$ Followed with paired t-test, $P > 0.05$].

همچنین در گروه P4 تحریک الکتریکی هسته LC سبب افزایش معنی دار میزان CTR در زمان ۵۰ میلی ثانیه بعد از شروع تحریک شده است.

اختلاف معنی داری مشاهده نشده است (t -test, $P < 0.05$).

۵- اثر تحریک الکتریکی هسته LC متعاقب محرومیت حسی بر زمان تاخیر شروع پاسخ نورونهای لایه ۴ قشر بارل به جابجایی کنترل شده ویسکر اصلی

همانطور که در شکل ۷ نشان داده شده است، مقایسه داخل گروهی زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها در گروه کنترل و P4 به جابجایی ویسکر اصلی با استفاده از آنالیز آماری repeated measure ANOVA(RMA) همراه با آزمون paired t-test نشان می دهد که در گروه کنترل تحریک الکتریکی هسته LC، سبب روند افزایشی در زمان تاخیر شروع پاسخ نورونهای لایه ۴ به جابجایی ویسکر اصلی شده است که این افزایش در زمان ۴۰۰ میلی ثانیه بعد از تحریک الکتریکی هسته LC معنی دار بوده است.

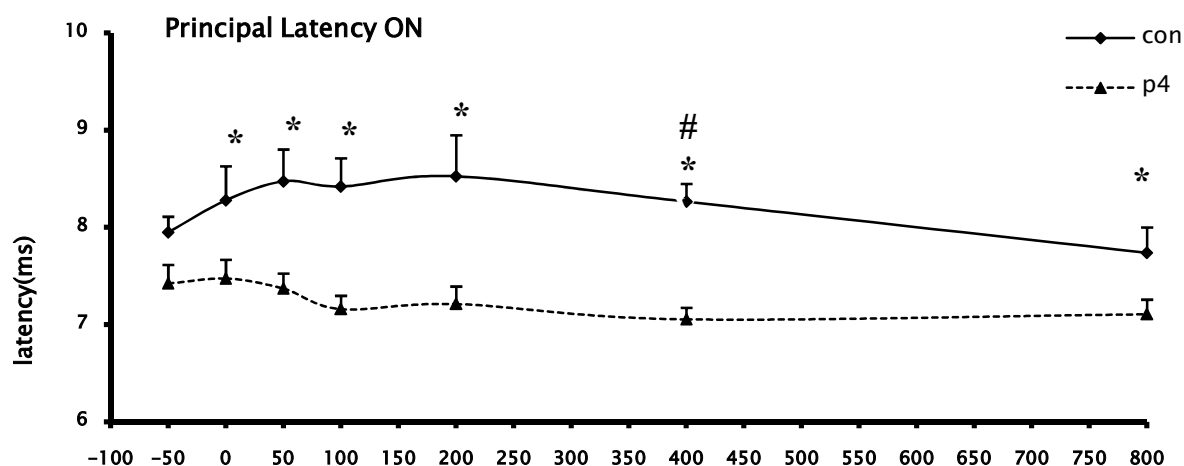
[with Paired t-test, $P < 0.05$]

F (3.646, 127.611) = 1.995, $P = 0.05$ Followed

در گروه P4 به دنبال تحریک الکتریکی هسته LC زمان تاخیر شروع پاسخ نورونهای به جابجایی ویسکر اصلی تغییر معنی داری نشان نداده است.

[F (3.063, 52.07) = 1.373, $P = 0.05$ Followed with Paired t-test, $P > 0.05$]

مقایسه زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها به جابجایی ویسکر



Time between whisker deflection and LC stimulation (ms)

شکل ۷- مقایسه داخل گروهی و بین گروهی اثر تحریک الکتریکی هسته LC متعاقب محرومیت حسی بر زمان تاخیر شروع پاسخ نورونهای لایه ۴ قشر بارل به جابجایی ویسکر اصلی در گروههای کنترل و P4: (*) اختلاف معنی دار زمان تاخیر شروع پاسخ نورونهای لایه ۴ قشر بارل در گروه P4 نسبت به گروه کنترل در پاسخ به جابجایی ویسکر اصلی، در بازه زمانی (۰-۸۰۰) میلی ثانیه، (#) اختلاف معنی دار در داخل گروه کنترل در زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها در زمان ۴۰۰ میلی ثانیه بعد از تحریک LC در جابجایی ویسکر اصلی ($P < 0.05$), کنترل: گروهی که ویسکر هایشان حذف نشده است. P4: حیواناتی که ویسکرهای آنان از روز، چهارم بعد از تولد حذف شده بود

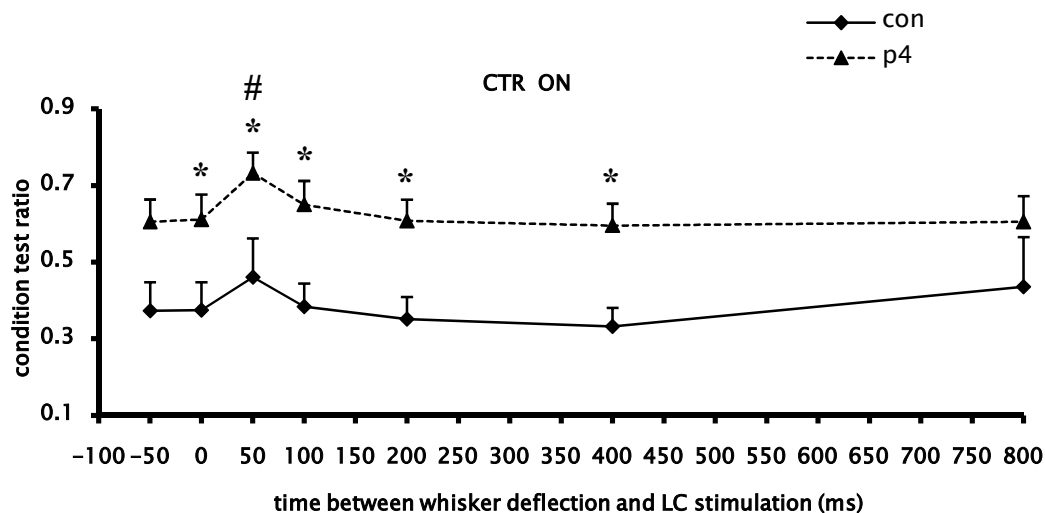
هسته LC در داخل گروه کنترل سبب افزایش بزرگی پاسخ نورونها شده است که در زمانهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میلی ثانیه اختلاف معنی دار شده است، همچنین در داخل گروه P4 محرومیت حسی به همراه تحریک الکتریکی فازیک هسته LC سبب کاهش بزرگی پاسخ نورونها شده است که این کاهش فقط در زمان صفر میلی ثانیه معنی دار شده است. بعلاوه، تحریک الکتریکی هسته LC در گروه P4 در مقایسه با گروه کنترل نشان داد که فقط در زمان ۵۰ میلی ثانیه اختلاف همانند زمان قبل از تحریک LC به سطح معنی داری رسیده است، در حالی که در سایر زمانها (۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰) میلی ثانیه، تحریک الکتریکی LC باعث شده است که اختلاف بزرگی پاسخ به جابجایی ویسکر اصلی به مقدار حداقل خودش رسیده و اختلاف معنی داری مشاهده نشده است. همچنین میزان CTR را نیز در گروه P4 در بازه زمانی ۵۰ میلی ثانیه کنترل افزایش معنی داری یافته است. در حالت طبیعی جهت افزایش حس توجه و تمرکز (focus) روی عوامل محرک در محیط اطراف باید بزرگی پاسخ نورونها یعنی میدان دریافتی در قشر مغز (receptive field) بزرگتر شود که از طریق کاهش در مهار جانبی (افزایش در CTR) و کاهش زمان تاخیر پاسخ نورونها انجام می گردد. بنابراین تحریک الکتریکی هسته LC سبب افزایش میدان

[F (2.680, 322.939) = 3.630 $P = 0.05$ Followed with paired t-test, $P < 0.05$]

مقایسه شاخص CTR به جابجایی ویسکر اصلی بین گروه P4 با گروه کنترل در هر زمان ثابت از تحریک الکتریکی هسته LC نشان داد که در زمانهای صفر و ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی ثانیه همانند زمان قبل از تحریک LC اختلاف معنی دار مشاهده می گردد و تغییری در روند شاخص CTR مشاهده نشده است و اختلافی که از قبل وجود داشته است همچنان وجود دارد (t -test, $P < 0.05$).

بحث

در این مطالعه اثر تحریک الکتریکی هسته LC بر خصوصیات پاسخی نورونهای لایه ۴ قشر بارل بدنبال ایجاد محرومیت حسی وابسته به تجربه مورد بررسی قرار گرفت. محرومیت حسی سبب شد تا بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی ویسکر اصلی افزایش یابد. همچنین زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها (Latency) در گروه محرومیت حسی (P4) کاهش نشان داد و نیز میزان CTR (به عنوان شاخص مهار جانبی) در این گروه نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. تحریک الکتریکی



شکل ۸- مقایسه داخل گروهی و بین گروهی اثر تحریک الکتریکی هسته LC متعاقب محرومیت حسی بر CTR نورونهای لایه ۴ قشر بارل به جابجایی توام ویسکرها در گروههای کنترل و P4. (*) اختلاف معنی دار در گروه P4 در بازه زمانی ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میلی ثانیه نسبت به گروه کنترل. (#) اختلاف در داخل گروه P4 در زمان ۵۰ میلی ثانیه نسبت به حالت بدون تحریک LC (در تمام موارد $P < 0.05$). کنترل: گروهی که ویسکر هایشان حذف نشده است. P4: حیواناتی که ویسکر های آنان از روز چهارم بعد از تولد حذف شده بود.

بدنبال ایجاد محرومیت حسی مشخص نیست. یکی از این مکانیسم ها کاهش در مهار جانبی در اثر حذف ویسکر ها مطرح می باشد. به نظر می رسد که مهار پاسخ به ویسکر های حذف شده منشأ قشری داشته و مدارهای موضعی در آن نقش داشته باشند [۸، ۹، ۱۹]. و از طرفی بیشتر مدارهای مهار در قشر بارل از طریق گیرنده های گابا وساطت می شوند به طوری که مهار گیرنده های GABA باعث افزایش میدان دریافتی تحریکی در قشر بارل می شود و از طرفی دیگر استفاده از آگونیست های گابا از کاهش بزرگی پاسخ نورونها به ویسکر حذف شده و افزایش بزرگی پاسخ به ویسکر اصلی جلوگیری می کند [۸].

جهت اثر تحریک الکتریکی هسته LC بر روی خصوصیات نورونهای قشر بارل، در مطالعه ای که توسط متقی و همکارانش انجام شد، مشخص گردید که تحریک الکتریکی فاز یک هسته LC به تنهایی (بدون ایجاد محرومیت حسی و حذف کردن ویسکرها) سبب کاهش زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها، افزایش بزرگی پاسخ نورونها و کاهش میزان CTR در نورونهای لایه V قشر بارل شده است [۱۳]. در مطالعه ما نیز در گروه کنترل، تحریک الکتریکی هسته LC سبب افزایش بزرگی پاسخ نورونها شده است ولی زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها افزایش یافته است شاید به این دلیل که نورونها ما از لایه ۴ قشر بارل ثبت گرفته شده بودند این اختلاف در زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها

دریافتی نورونها، افزایش حس توجه و حالت هوشیاری (Alerting) و دقت در انجام کارهایی که نیاز به تمرکز بیشتری دارد در موش صحرایی می شود [۱۰، ۱۲]. این یافته ها نشان می دهد که LC در تعدیل خصوصیات پاسخی نورونها و الگوی پاسخ آنها موثر می باشد. Fox و همکارانش نشان دادند که در اثر حذف ویسکر ها (محرومیت حسی) و باقی گذاشتن یکی سبب تقویت بزرگی پاسخ نورون های لایه ۴ قشر بارل می شود که این بیشتر محدود به هفته اول بعد از تولد می باشد [۴]. در مطالعه ما نیز در گروه محرومیت حسی (P4) افزایش بزرگی پاسخ در سیبل اصلی نسبت به گروه کنترل مشاهده گردیده است. لوین و همکارانش نشان دادند که پس از القاء محرومیت حسی و باقی گذاشتن یک ویسکر (spare شده) میزان مصرف گلوکز در بارل باقی مانده به عنوان شاخص فعالیت نورون ها افزایش می یابد [۱۱].

شمسی زاده و همکارانش نشان دادند حذف ویسکر ها در روزهای اول، پنجم و هشتم بعد از تولد سبب افزایش بزرگی پاسخ نورونهای لایه ۴ قشر بارل و افزایش میزان CTR در ویسکر اصلی می شود [۱۶]. در مطالعه ما نیز مشخص شده که حذف ویسکر ها (P4) باعث افزایش در بزرگی پاسخ نورونها لایه ۴ قشر بارل و افزایش شاخص CTR به جابجایی ویسکر اصلی می شود. مکانیسم دقیق این افزایش بزرگی پاسخ نورونها

مشاهده شده است. همچنین عرب زاده و همکاران نشان دادند که حذف نوراپی نفرین مغز به دنبال القاء محرومیت حسی مانع از ایجاد شکل پذیری و تغییر در خصوصیات پاسخی نورونهای قشر بارل می شود [۱۷]. در مطالعه ما مشخص شد که تحریک الکتریکی هسته LC (منبع تولید کننده نوراپی نفرین مغز) به دنبال محرومیت حسی (حذف ویسکرها) سبب ایجاد تغییر در الگوی پاسخی نورونها شده است. به این صورت که در بازه های زمانی مختلف تحریک الکتریکی هسته LC (۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ میلی ثانیه) سبب افزایش بزرگی پاسخ نورونها و کاهش زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها و افزایش میزان CTR شده است. مطالعات نشان داده که تحریک الکتریکی فاز یک هسته LC ۵۰ میلی ثانیه بعد از جابجایی ویسکر اصلی (بدون محرومیت حسی)، باعث کاهش اندازه پاسخ نورون های لایه چهارم قشر بارل در پاسخ به خم کردن ویسکر اصلی می شود [۲]. در صورتی که در مطالعه ما در گروه کنترل افزایش پاسخ در زمانهای ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ میلی ثانیه مشاهده گردید. شاید تفاوت مربوط به شاخصهای زمان اندازه گیری پاسخ نورونها بوده است که در مطالعه قبلی ده میلی ثانیه اول بعد از شروع تحریک لحاظ شده است. در حالی که در مطالعه فعلی ما زمان اندازه گیری پاسخ نورونها ۲۵-۵ میلی ثانیه اول بعد از شروع تحریک محاسبه شده است. در مطالعات مختلف نشان داده شده است که تحریک LC تأثیرات متفاوتی را بر لایه های قشر اعمال می کنند که این اثرات می توانند ناشی از پروجکشن های متفاوت این هسته به لایه های مختلف قشر بارل و یا در اثر انواع گوناگون گیرنده های نور آدرنرژیک در این لایه ها باشد [۲۳، ۲۰، ۱۲]. Sato و همکاران نشان دادند که تحریک فاریک LC باعث تسهیل و تضعیف پاسخ نورونها در قشر بینایی گربه می شود. اثرات تضعیفی در لایه های دو، سه و چهار غالب بوده در صورتی که اثرات تسهیلی در لایه ۵ و ۶ مشاهده می شود [۱۵]. در مطالعه دیگری که توسط Lecas و همکارانش ارائه گردید، مشخص شد که تحریک فاز یک هسته LC سبب تسهیل بزرگی پاسخ نورون ها در قشر حس پیکری مربوط به پای جلویی موش صحرایی می گردد، بعلاوه زمان تاخیر پاسخ نورونها به تحریک پای جلویی کاهش می یابد [۱۰].

در مطالعه ما نیز در داخل گروه مربوط به محرومیت حسی (P4) نسبت به گروه کنترل در بعضی از زمانها، تحریک

الکتریکی هسته LC سبب افزایش بزرگی پاسخ نورونهای لایه ۴ قشر بارل شده است ولی اثر معنی داری بر زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها نداشته است. در مطالعه ما اختلاف بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی ویسکر اصلی در هر زمان ثابت از تحریک الکتریکی LC در گروه محرومیت حسی نسبت به گروه کنترل در مقایسه با قبل از تحریک به حداقل خود رسیده است که این احتمالاً می تواند ناشی از فعال شدن گیرنده های NE در قشر مغز و تداخل اثر آن با مسیرهای تالامو کورتیکال باشد که البته این فرض نیاز به تحقیق بیشتری دارد. تزریق ایوتوفورزیس، مشابه تحریک الکتریکی هسته LC دارای دو اثر متضاد تحریکی و مهار می باشد [۲۳]. علت این تفاوت پاسخ ممکن است در فعال شدن گیرنده های متفاوت آدرنرژیک باشد. به این صورت که فعالیت α -رستپورها منجر به تسهیل در پاسخ می شود و فعال شدن β -رستپور سبب پاسخ مهار می گردد [۲۴، ۲۳، ۱۲]. از طرفی مطالعات نشان می دهد که در مهار جانبی رستپور گابا نقش دارد [۱۱، ۱۰]. بین گابا و نوراپی نفرین اثر متقابل در قشر وجود دارد [۸]. نوراپی نفرین با استفاده از α -رستپورها مهار پاسخ ایجاد شده توسط گابا را کاهش می دهد [۸، ۹]. در مطالعه ما در داخل گروه کنترل به دنبال تحریک الکتریکی هسته LC بزرگی پاسخ نورونها افزایش یافته و تغییری در روند شاخص CTR مشاهده نشده است و اختلافی که از قبل وجود داشته است همچنان وجود دارد. بنابراین به نظری می رسد که بیشتر مدارهای تحریکی تحت تاثیر قرار گرفته اند. با توجه به ارتباط هسته LC با نواحی و ساختارهای زیر قشر مثل تالاموس و هسته تری ژمینال این احتمال وجود دارد که این نواحی روی اثرات تحریک هسته LC موثر بوده که نیاز به مطالعات بیشتری در آینده دارد. بنابراین بطور کلی مطالعه ما نشان داد که تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس به دنبال محرومیت حسی سبب ایجاد اثرات مدولاتوری بر روی خصوصیات پاسخی نورونهای لایه ۴ قشر بارل می شود.

سپاسگزاری

یافته این پژوهش با حمایت مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان صورت پذیرفته است. از همکاری این مرکز نهایت تشکر و قدردانی بعمل می آید.

References

- [1] Aston-Jones G, Rajkowski J, Kubiak P, Alexinsky T, Locus coeruleus neurons in monkey are selectively activated by attended cues in a vigilance task. *J Neurosci* 14 (1994) 4467-80.
- [2] Behzadi J, Sheibani V, Esteky H, Ganji F, Effect of locus ceruleus phasic electrical stimulation on responses of barrel cortical cells to controlled mechanical displacement in rats. *J Physiology and Pharmacology* 6(1) (2002)27-37.
- [3] Diamond ME, Armstrong-James M, Ebner FF, Experience-dependent plasticity in adult rat barrel cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 90 (1993) 2082-6.
- [4] Fox K, Anatomical pathways and molecular mechanisms for plasticity in the barrel cortex. *Neuroscience* 111 (2002) 799-814.
- [5] Glazewski S, Fox K, Time course of experience-dependent synaptic potentiation and depression in barrel cortex of adolescent rats. *J Neurophysiol* 75 (1996) 1714-29.
- [6] Glazewski S, McKenna M, Jacquin M, Fox K, Experience-dependent depression of vibrissae responses in adolescent rat barrel cortex. *Eur J Neurosci* 10 (1998) 2107-16.
- [7] Hirata H, Aston-Jones G, A novel long-latency response of locus coeruleus neurons to noxious stimuli: mediation by peripheral C-fibers. *J Neurophysiol* 71 (1994) 1752-61.
- [8] Kyriazi H, Carvell GE, Brumberg JC, Simons DJ, Laminar differences in bicuculline methiodide's effects on cortical neurons in the rat whisker/barrel system. *Somatosens Mot Res* 15 (1998) 146-56.
- [9] Kyriazi HT, Carvell GE, Brumberg JC, Simons DJ, Effects of baclofen and phaclofen on receptive field properties of rat whisker barrel neurons. *Brain Res* 712 (1996) 325-8.
- [10] Lecas JC, Locus coeruleus activation shortens synaptic drive while decreasing spike latency and jitter in sensorimotor cortex. Implications for neuronal integration. *Eur J Neurosci* 19 (2004) 2519-30.
- [11] Levin BE, Craik RL, Hand PJ, The role of norepinephrine in adult rat somatosensory (SmI) cortical metabolism and plasticity. *Brain Res* 443 (1988) 261-71.
- [12] Lidov HG, Rice FL, Molliver ME, The organization of the catecholamine innervation of somatosensory cortex: the barrel field of the mouse. *Brain Res* 153 (1978) 577-84.
- [13] Motaghi S, Sheibani V, Farazifard R, Joneidi H, Electrical stimulation of locus coeruleus strengthens the surround inhibition in layer V barrel cortex in rat. *Neurosci Lett* 401 (2006) 280-4.
- [14] Neophytou SI, Aspley S, Butler S, Beckett S, Marsden CA, Effects of lesioning noradrenergic neurones in the locus coeruleus on conditioned and unconditioned aversive behaviour in the rat. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 25 (2001) 1307-21.
- [15] Sato H, Fox K, Daw NW, Effect of electrical stimulation of locus coeruleus on the activity of neurons in the cat visual cortex. *J Neurophysiol*. 62(4) 1989 946-58.
- [16] Shamsizadeh A, Sheibani V, Arabzadeh S, Afarinesh MR, Farazifard R, Noorbakhsh SM, Fathollahi Y, Single whisker experience started on postnatal days 0, 5 or 8 changes temporal characteristics of response integration in layers IV and V of rat barrel cortex neurons. *Brain Res Bull* 74 (2007) 29-36.
- [17] Sheibani V, Arabzadeh S, Afarineshkhaki MR, Shamsizadeh A, Aminizadeh H, Azizollahi S, Effect of Norepinephrine depletion on induction of experience dependent plasticity in male rat barrel cortex. *J Physiology and Pharmacology* 11 (4)(2008)244-251.
- [18] Simons DJ, Carvell GE, Thalamocortical response transformation in the rat vibrissa/barrel system. *J Neurophysiol* 61 (1989) 311-30.
- [19] Simons DJ, Land PW, Neonatal whisker trimming produces greater effects in nondeprived than deprived thalamic barreloids. *J Neurophysiol* 72 (1994) 1434-7.
- [20] Skibinska A, Glazewski S, Fox K, Kossut M, Age-dependent response of the mouse barrel cortex to sensory deprivation: a 2-deoxyglucose study. *Exp Brain Res* 132 (2000) 134-8.
- [21] Snow PJ, Andre P, Pompeiano O, Effects of locus coeruleus stimulation on the responses of SI neurons of the rat to controlled natural and electrical stimulation of the skin. *Arch Ital Biol* 137(1) 1999 1-28.
- [22] Waite PME, Tracy DJ, Trigeminal sensory system. In: Paxinos G, editor. *The rat nervous system*. Academic

- press, 1995, p.705-724.
- [23] Warren RA, Dykes RW, Transient and long-lasting effects of iontophoretically administered norepinephrine on somatosensory cortical neurons in halothane-anesthetized cats. *Can J Physiol Pharmacol* 74 (1996) 38-57.
- [24] Waterhouse BD, Moises HC, Woodward DJ, Noradrenergic modulation of somatosensory cortical neuronal responses to iontophoretically applied putative neurotransmitters. *Exp Neurol* 69 (1980) 30-49.
- [25] Watson C, Paxinos G, *The rat brain in stereotaxic coordinates*. New York: Acad. Press, 1986.
- [26] Woolsey TA, Wann JR, Areal changes in mouse cortical barrels following vibrissal damage at different postnatal ages. *J Comp Neurol* 170 (1976) 53-66.
- [27] Yuste R, Simons D, *Barrel in the desert*, The Sde Boker Workshop on Neocortical Circuits, Neuron, 1997, 19(2), p. 231-237.